



Guided Search

[new search](#) [favorites](#) [settings](#) [order](#) [cost](#) [logoff](#) [help](#)

Dynamic Search: INPADOC/Family and Legal Status, Derwent World Patents Index®

Records for: PN=JP 6311897

[save as alert...](#)[save strategy only...](#)

Output

Format:

Long



Output as:

Browser

[display/send](#)

Modify

[refine search](#)[back to picklist](#)
 select
 tall none

Records 1-2 of 2 In long Format

1. 2/34/1 (Item 1 from file: 351)

010126014 **Image available**

WPI Acc No: 1995-027265/ 199504

Compsn. for measurement of potassium ion, providing high accuracy - contains urea amidoliase, urea, ATP, bicarbonate ion and magnesium ion

Patent Assignee: TOYOB0 KK (TOYM)

Number of Countries: 001 Number of Patents: 001

Patent Family:

Patent No	Kind	Date	Applicat No	Kind	Date	Week
JP 6311897	A	19941108	JP 93103034	A	19930428	199504 B

Priority Applications (No Type Date): JP 93103034 A 19930428

Patent Details:

Patent No	Kind	Lan	Pg	Main IPC	Filing Notes
JP 6311897	A	5		C12Q-001/58	

Abstract (Basic): JP 6311897 A

Compsn. contains (A) urea amido liase; (B) urea; (C) adenosine triphosphate; (D) bicarbonate ion; and (E) magnesium ion. The enzyme (A) catalyses the reaction of urea with bicarbonate ion and ATP to form allophanic acid which further reacts with URL to form ammonia. The bicarbonate source is e.g. sodium bicarbonate. The magnesium ion source is e.g. magnesium sulphate.

USE/ADVANTAGE - Without a sodium- ion-binding agent, method permits easy and accurate determn. of potassium ion in a short time.

Dwg.0/6

Derwent Class: B04; D16; E34; J04

International Patent Class (Main): C12Q-001/58

International Patent Class (Additional): C12Q-001/527

Derwent WPI (Dialog® File 351): (c) 2005 Thomson Derwent. All rights reserved.

2.

2/34/2 (Item 2 from file: 345)

12109932

Basic Patent (No,Kind,Date): JP 6311897 A2 941108 No. of Patents: 001

PATENT FAMILY:

JAPAN (JP)

Patent (No,Kind,Date): JP 6311897 A2 941108

COMPOSITION FOR POTASSIUM ION MEASUREMENT (English)

Patent Assignee: TOYO BOSEKI

Author (Inventor): NISHIYA YOSHIAKI; TEJIMA SHINICHI; AISUI SHIGENORI

Priority (No,Kind,Date): JP 93103034 A 930428

Applic (No,Kind,Date): JP 93103034 A 930428

IPC: * C12Q-001/58; C12Q-001/527

CA Abstract No: ; 122(11)128124Y
Derwent WPI ACC No: ; C 95-027265
Language of Document: Japanese

Inpadoc/Fam.& Legal Stat (Dialog® File 345): (c) 2005 EPO. All rights reserved.

select
 all none

Records 1-2 of 2 In long Format

Output 

Format:  Output as:  display/send

Modify 

©1997-2005 Dialog, a Thomson business – Version 2.5

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平6-311897

(43)公開日 平成6年(1994)11月8日

(51)Int.Cl.⁵

C 12 Q 1/58
1/527

識別記号

府内整理番号
6807-4B
6807-4B

F I

技術表示箇所

審査請求 未請求 請求項の数 1 O L (全 5 頁)

(21)出願番号

特願平5-103034

(22)出願日

平成5年(1993)4月28日

(71)出願人 000003160

東洋紡績株式会社
大阪府大阪市北区堂島浜2丁目2番8号

(72)発明者 西矢 芳昭

福井県敦賀市東洋町10番24号 東洋紡績株
式会社敦賀バイオ研究所内

(72)発明者 手嶋 真一

福井県敦賀市東洋町10番24号 東洋紡績株
式会社敦賀バイオ研究所内

(72)発明者 愛水 重典

福井県敦賀市東洋町10番24号 東洋紡績株
式会社敦賀バイオ研究所内

(54)【発明の名称】 カリウムイオン測定用組成物

(57)【要約】

【目的】 操作性、定量性、正確性に優れ、ナトリウムイオン結合剤を必要としないカリウムイオン濃度の酵素的測定用組成物を提供する。

【構成】 ウレアアミドリアーゼ、尿素、アデノシン三磷酸またはその塩、重炭酸イオンおよびマグネシウムイオンを含有するカリウムイオン測定用組成物。

【効果】 ウレアアミドリアーゼがナトリウムイオンに作用しないことから、ナトリウムイオンの影響を受けることなく、正確に試料中のカリウムイオンを測定できる。

1

【特許請求の範囲】

【請求項1】 (a) ウレアアミドリアーゼ、(b) 尿素、(c) アデノシン三磷酸またはその塩、(d) 重炭酸イオンおよび(e) マグネシウムイオンを含有することを特徴とするカリウムイオン測定用組成物。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明はカリウムイオン測定用組成物に関するものである。体液中のカリウムイオン測定は、急性腎不全や慢性腎不全などの腎疾患、原発性アルデステロン症や続発性アルデステロン症などの内分泌症疾患の、有用な情報を与えるものとして臨床意義が深い。

【0002】

【従来の技術】従来、カリウムイオンを含めて体液中の金属イオンの測定法としては、炎光度計法、化学的測定法、イオン選択電極法などが用いられてきている。しかしながら、炎光度計法は操作が煩雑であり、試料の処理能力に問題があった。化学的測定法は、操作が煩雑な上に試薬が高価であるという問題があり、臨床検査の現場で実際には余り用いられていない。イオン選択電極法は、比較的操作が簡単であるが、電極の劣化のため測定時に誤差を生じるという問題がある。また最近では酵素法によるカリウムイオンの測定方法が報告されている(Clin. Chem. 1989;35:817-820、特開平1-503596号公報など)。この方法は、ビルビン酸キナーゼがカリウムイオンにより活性化されることを利用している。しかしながら、ビルビン酸キナーゼはナトリウムイオンによっても*

URL

*カリウムイオンと同様に活性化される。従って、体液中にカリウムイオンよりも多量に存在するナトリウムイオンの影響を軽減するため、高価なナトリウム結合剤を添加する必要があるという問題があった。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】本発明の目的は、上記現状に鑑み、操作性、定量性、正確性に優れ、ナトリウムイオン結合剤を必要としないカリウムイオン濃度の酵素的測定用組成物を提供することである。

10 【0004】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、カリウムイオンにより活性化される酵素を用いて検体中のカリウムイオン濃度を測定する方法を観察検討したところ、ウレアアミドリアーゼがカリウムイオンにより活性化されるが、ナトリウムイオンによっては活性化されないという優れた特性を示すことを見出した。従って、ウレアアミドリアーゼを利用することにより、ナトリウムイオン結合剤を使用せずに、体液中のカリウムイオン濃度を短時間に簡単に高感度で正確に測定できることを見出し、

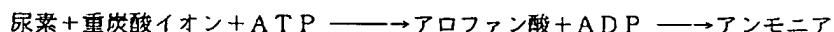
20 本発明に到達した。

【0005】すなわち、本発明は(a)ウレアアミドリアーゼ、(b)尿素、(c)アデノシン三磷酸またはその塩、(d)重炭酸イオンおよび(e)マグネシウムイオンを含有することを特徴とするカリウムイオン測定用組成物である。

【0006】本発明においてウレアアミドリアーゼ(URL)は下記反応を触媒する。

【化1】

URL



K⁺ , Mg⁺⁺

【0007】本発明のカリウムイオン測定用組成物を用いて試料中のカリウムイオンを測定するには、試料中のカリウムイオンとマグネシウムイオンの存在下、基質となる尿素および重炭酸塩とATPにウレアアミドリアーゼを作用させ、生成するアンモニアまたはADPを測定する。

【0008】本発明に用いられるウレアアミドリアーゼの起源は特に限定されるものではない。例えば、単細胞緑藻、酵母、その他の微生物由来のものが用いられ、好適にはサッカロマイセス属、キャンディダ属のものが用いられる。

【0009】重炭酸イオンとしては、重炭酸ナトリウム、重炭酸リチウムなどの重炭酸塩を使用する。重炭酸塩としてはカリウム塩は使用できない。マグネシウムイオンとしては、硫酸マグネシウム、塩化マグネシウムなどのマグネシウム塩を使用する。

【0010】生成したアンモニアを測定する手段として※50

※は、例えばアンモニアをα-ケトグルタル酸およびNADHまたはNADPHの存在下、グルタミン酸脱水素酵素を作用させ、生成するNADHまたはNADPを紫外部の吸収度減少で測定する方法、アンモニアをグルタミン酸塩およびATPの存在下、グルタミンシセターゼを作用させ、生成するグルタミンにグルタミンオキシダーゼを作用させ、生成する過酸化水素を測定する方法、アンモニアにサリチル酸と次亜塩素酸ナトリウム及びニトロブルドナトリウムを作用させ、生成するインドフェノールを560 nmの吸光で測定する方法、アンモニア電極により直接測定する方法などがある。

【0011】本発明に用いられるウレアアミドリアーゼの測定に使用する酵素濃度は、測定に適した濃度であれば特に制限されるものではないが、通常、0.01~1.0 U/m lの範囲で好適に用いられる。尿素、アデノシン三磷酸またはその塩、重炭酸イオンおよびマグネシウムイオンの使用濃度は、測定に適した濃度であれば特に

制限されるものではないが、尿素は通常、1～500 mMの範囲で好適に用いられ、アデノシン三磷酸またはその塩は通常、0.1～10 mMの範囲で好適に用いられる。重炭酸イオンは通常、5～500 mM、マグネシウムイオンは通常、1～100 mMの範囲が好適に用いられる。

【0012】本発明のカリウムイオン測定用組成物のpHは、緩衝液によりpH 6～8に保たれているのが好ましく、緩衝液はカリウムイオンを含有しないものであればいかなるものでもよい。例えばトリエタノールアミン緩衝液、GOOD緩衝液、トリス緩衝液などが挙げられる。

【0013】本発明の試薬は必要により、界面活性剤、防腐剤、安定化剤、酵素賦活剤等を加えてもよい。界面活性剤としては、非イオン界面活性剤などが好適に用いられる。防腐剤としては、NaN₃、抗生素質などが好*

試薬

トリス緩衝液 (pH 8.0)	0.05 M
ウレアアミドリーゼ (サッカロマイセス属由来)	0.2 U/m l
尿素	200 mM
アデノシン三磷酸ナトリウム塩	1 mM
硫酸マグネシウム	10 mM
重炭酸ナトリウム	4 mM
グルタミン酸脱水素酵素 (プロテウス属由来)	100 U/m l
α-ケトグルタル酸	1 mM
NADPH	0.5 mM

【0016】測定方法

塩化カリウム水溶液10 mMの10段階希釈液と血清10段階希釈液をそれぞれ試料とし、各100 μlを採取し、これに上記試薬3 m lを加えて30°Cで5分間反応させて、340 nmにおけるタイムコース (測定波長において酵素反応が進んでいる挙動) と1分間の吸光度変化を求めた。なお、ブランクはカリウムイオン含有被検液の代わりに蒸留水を用いた。

【0017】図1に10 mM塩化カリウム水溶液と血清※

試薬

トリス緩衝液 (pH 7.6)	0.05 M
ビルビン酸キナーゼ (ウサギ筋肉由来)	0.5 U/m l
ホスホエノールビルビン酸	1 mM
アデノシン二磷酸ナトリウム塩	6 mM
塩酸マグネシウム	5 mM
乳酸脱水素酵素 (微生物由来)	10 U/m l
NADH	0.5 mM

測定方法

塩化カリウム水溶液10 mMの10段階希釈液を試料とし、各40 μlを採取し、これに上記試薬3.2 m lを加えて37°Cで5分間反応させて、340 nmにおける1分間の吸光度変化を求めた。なお、ブランクはカリウムイオン含有被検液の代わりに蒸留水を求めた。

【0019】図4に10 mM塩化カリウム水溶液の希釈★50

*適に用いられる。安定化剤、酵素賦活剤としては効果を示すものであれば特に限定されず、例えばアルブミン、マグネシウムイオン等が挙げられる。

【0014】本発明の組成物を用いてカリウムを測定する条件としては、特に厳密に規制するものではないが、反応温度は20～40°Cの間で、好ましくは25°Cあるいは30°Cである。反応時間は1～10分の間が好適である。測定波長としては、340 nm付近、または色素を用いた場合は発色した色素のλ_{max}付近で測定されることが望ましい。

【0015】

【実施例】以下、本発明を実施例により詳細に説明する。

実施例1

試料中のカリウムイオン濃度は下記試薬を用いて下記測定法により測定した。

※試料のタイムコースを示す。図2に血清試料の希釈直線性を示す。図3に10 mM塩化カリウム水溶液の希釈直線性を示す。図1～3より明らかなように、塩化カリウム水溶液、あるいは血清を試料として用いても、本発明ではナトリウムイオン結合剤を使用せずに、短時間に正確かつ簡単にカリウムイオンを測定することができる。

【0018】比較例1

試料中のカリウムイオン濃度を下記試薬を用いて下記測定法により測定した。

★直線性を示す。図4に塩化ナトリウム水溶液を試料とした場合の吸光度変化を示す。また図6に実施例1に示した測定による塩化ナトリウムを試料とした場合の吸光度変化を示す。図4～6より明らかなように、従来のビルビン酸キナーゼを用いた方法ではナトリウム塩により吸光度が変化するが、本発明ではナトリウム塩の影響を受けて試料中のカリウムイオンを測定することができ

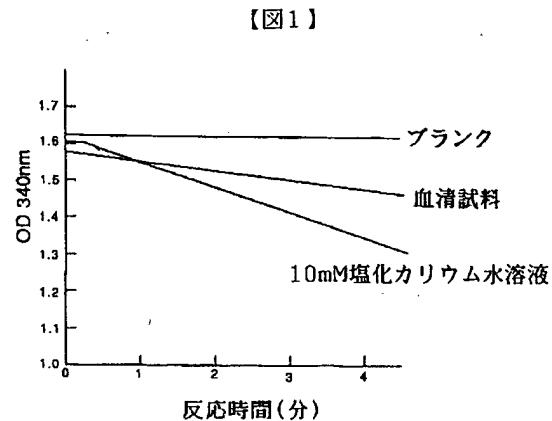
る。

【0020】

【発明の効果】本発明のカリウムイオン測定用組成物を用いることにより、試料中のカリウムイオンを、ナトリウムイオン結合剤を使用せずに、短時間に正確かつ簡単に定量することができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】10 mM塩化カリウム水溶液と血清試料のタイムコースを示す。



【図2】血清試料の希釈直線性を示す。

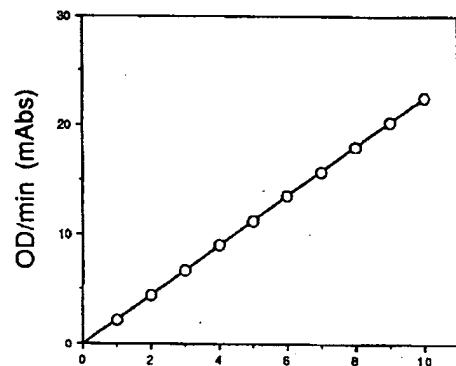
【図3】10 mM塩化カリウム水溶液の希釈直線性を示す。

【図4】10 mM塩化カリウム水溶液の希釈直線性を示す。

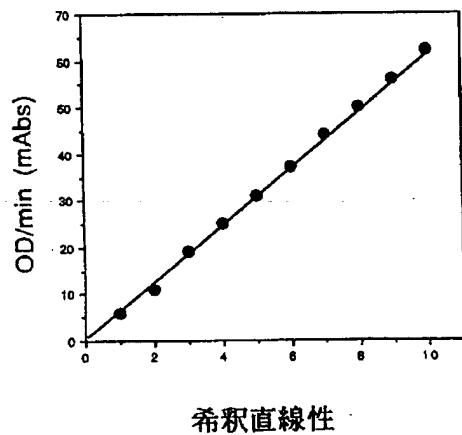
【図5】塩化ナトリウム水溶液による吸光度変化を示す。

【図6】塩化ナトリウム水溶液による吸光度変化を示す。

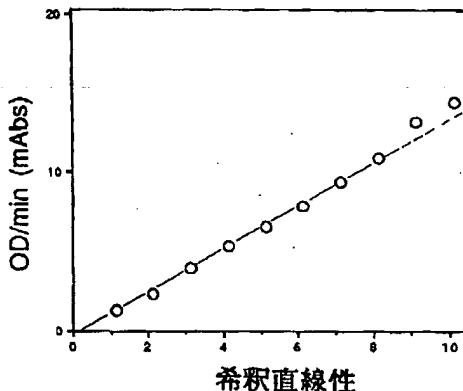
【図2】



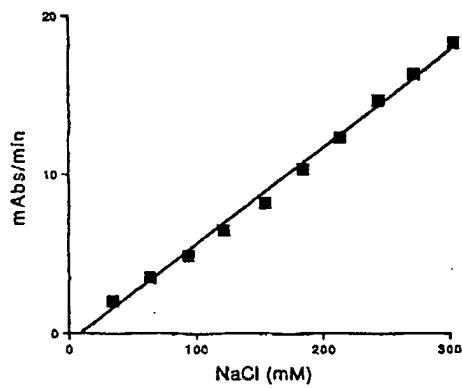
【図3】



【図4】



【図5】



【図6】

